Université Alger 1 Benyoucef Benkhedda
Faculté de Médecine d'Alger
3ème année de Médecine
Année 2022-2023

Les marqueurs du remodelage osseux

Pr Chikouche

Plan

- Introduction
- Structure du tissu osseux
- Cellules osseuses et renouvellement osseux
- Le remodelage osseux
  - Le BMU ou basic multicellular unit ou unité multicellulaire de base
  - Les différentes phases du cycle du remodelage
  - Contrôle et facteurs de régulation du remodelage osseux
  - Régulation hormonale du remodelage osseux
  - Régulation locale du remodelage osseux
    - Système RANKL/RANK/OPG
    - Signalisation Wnt
    - Autres facteurs
- Marqueurs de remodelage osseux
  - Généralités
  - Synthèse / Dégradation du collagène
  - Marqueurs sériques et urinaires du remodelage osseux et méthodes de dosage
  - Marqueurs de la formation osseuse
  - Marqueurs de résorption osseuse
  - Autres protéines de la matrice osseuse
  - Nouveaux marqueurs osseux

Introduction

- Le tissu osseux est l'un des tissus les plus durs du corps.
- Il a 3 fonctions importantes : mécanique, protectrice et métabolique.
- Les fonctions mécaniques des muscles squelettiques sont de fournir un mouvement corporel basé sur l'attachement aux os. La contraction permet le mouvement du corps.
- La fonction protectrice des os est l'armure fournie aux organes internes, tels que ceux du crâne et du thorax. Avec le processus d'hématopoïèse dans la moelle osseuse.
- La fonction métabolique de l'os assure le stockage des ions, tels que le calcium, le phosphore, le sodium et le magnésium, et le maintien de l’homéostasie de ces minéraux .

Structure du tissu osseux

- Os = tissu conjonctif minéralisé composé d'une structure organique et inorganique.
- Structure inorganique, ou structure minérale: principalement constituée de cristaux d'hydroxyapatite Ca10 (PO4)6 (OH)2, de magnésium, etc. Les cristaux d'hydroxyapatite offrent la résistance à l'os.
- La matrice organique est formée par le collagène qui en est la protéine majeure.
  - Les glycosaminoglycanes et glycoprotéines constituent environ 10% de la matrice organique.
  - 80% à 90% du collagène c'est du collagène de type 1, d'autres types de collagène (collagène de type 3, 5, 11, 13) constituent également la structure matricielle. Les fibrilles de collagène sont l'élément qui fournit la force
  - Les protéines non collagènes, telles que les protéoglycanes, les glycoprotéines (phosphatase alcaline et ostéonectine), les glycoprotéines contenant de l'arginine-glycine-asparagine (ostéopontine et sialoprotéine osseuse), l'ostéoprotégérine et les protéines carboxylées (Gla) (ostéocalcine et matrice protéine Gla), sont également présentes.

Cellules osseuses et renouvellement osseux

- L'os est un tissu métaboliquement actif qui se renouvelle constamment par résorption, formation et remodelage.
- Les cellules responsables de la résorption osseuse sont les ostéoclastes et les cellules impliquées dans la formation (structure) osseuse sont les ostéoblastes.
- **Ostéoclastes**
  - Ce sont des cellules de dégradation à noyaux multiples dérivées de cellules souches hématopoïétiques pluripotentes. Ils ont une membrane qui agit comme une clé de la résorption osseuse.
  - Les récepteurs de la calcitonine sont présents dans leurs membranes. Il n'y a pas de récepteurs de l'hormone parathyroïdienne ou de la vitamine D. Ils possèdent la phosphatase acide et l'anhydrase carbonique résistantes au tartrate. Ils réduisent le pH via l'enzyme ATPase à la base de la membrane. L'hydroxyapatite devient soluble et une déminéralisation se produit dans l’os.

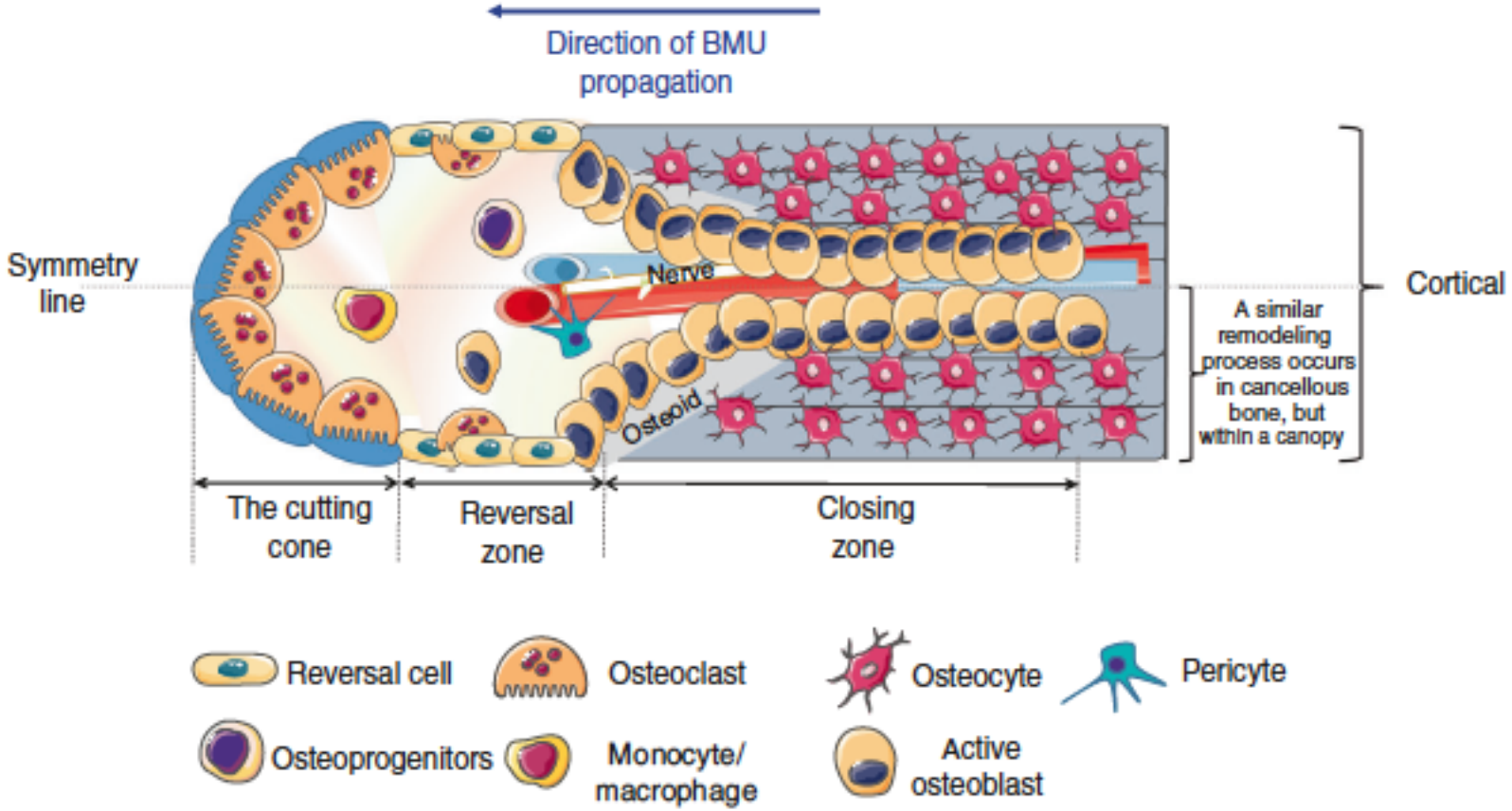
Cellules osseuses et renouvellement osseux

- **Ostéoblastes**
- Ce sont des cellules dérivées de précurseurs pluripotents. Ils synthétisent de nombreuses protéines osseuses, facteurs de croissance et cytokines dans l'os.
- Ils sont responsables de la formation d'une nouvelle matrice et de la minéralisation. Ils contrôlent la minéralisation en régulant la transition des ions calcium et phosphate des membranes de surface. La surface cellulaire contient des récepteurs de la parathormone, de la vitamine D et des œstrogènes. L'enzyme phosphatase alcaline est présente dans la membrane plasmique.

- **Ostéocytes**
- Ce sont les cellules les plus abondantes dans l'os. Ils se forment lorsqu'un ostéoblaste s'incruste dans la matrice qu'il a sécrété.
- Ils maintiennent le tissu osseux en vie. Les nutriments et les hormones passent de cellule en cellule avec leurs extensions cytoplasmiques. Ils sont impliqués dans la détection de la charge mécanique appliquée à l'os et la signalisation biochimique conduisant à la résorption ou à la formation. Ils sont responsables de l'homéostasie du phosphate en régénérant la matrice minéralisée et en régulant l'excrétion d'une quantité suffisante de calcium dans la circulation et de phosphate par les reins.
- Ils se développent à partir des ostéoblastes et contribuent également à la formation de la matrice osseuse. Ils expriment les récepteurs pour de nombreuses hormones et cytokines.
- En raison de la sécrétion de la sclérostine et du facteur de croissance des fibroblastes 23 (FGF23), ils agissent comme une cellule endocrine. Ces facteurs sont importants pour les interactions ostéocytes-ostéoblastes.

Le remodelage osseux

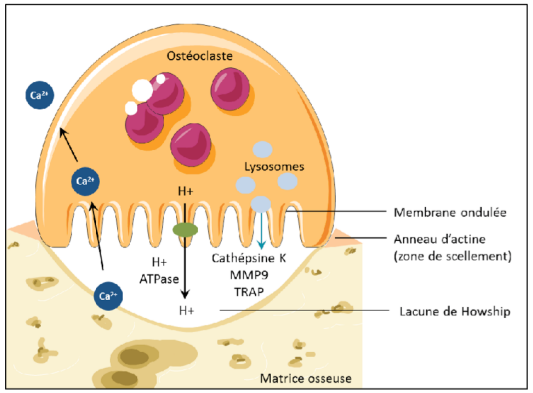
Le BMU ou basic multicellular unit ou unité multicellulaire de base



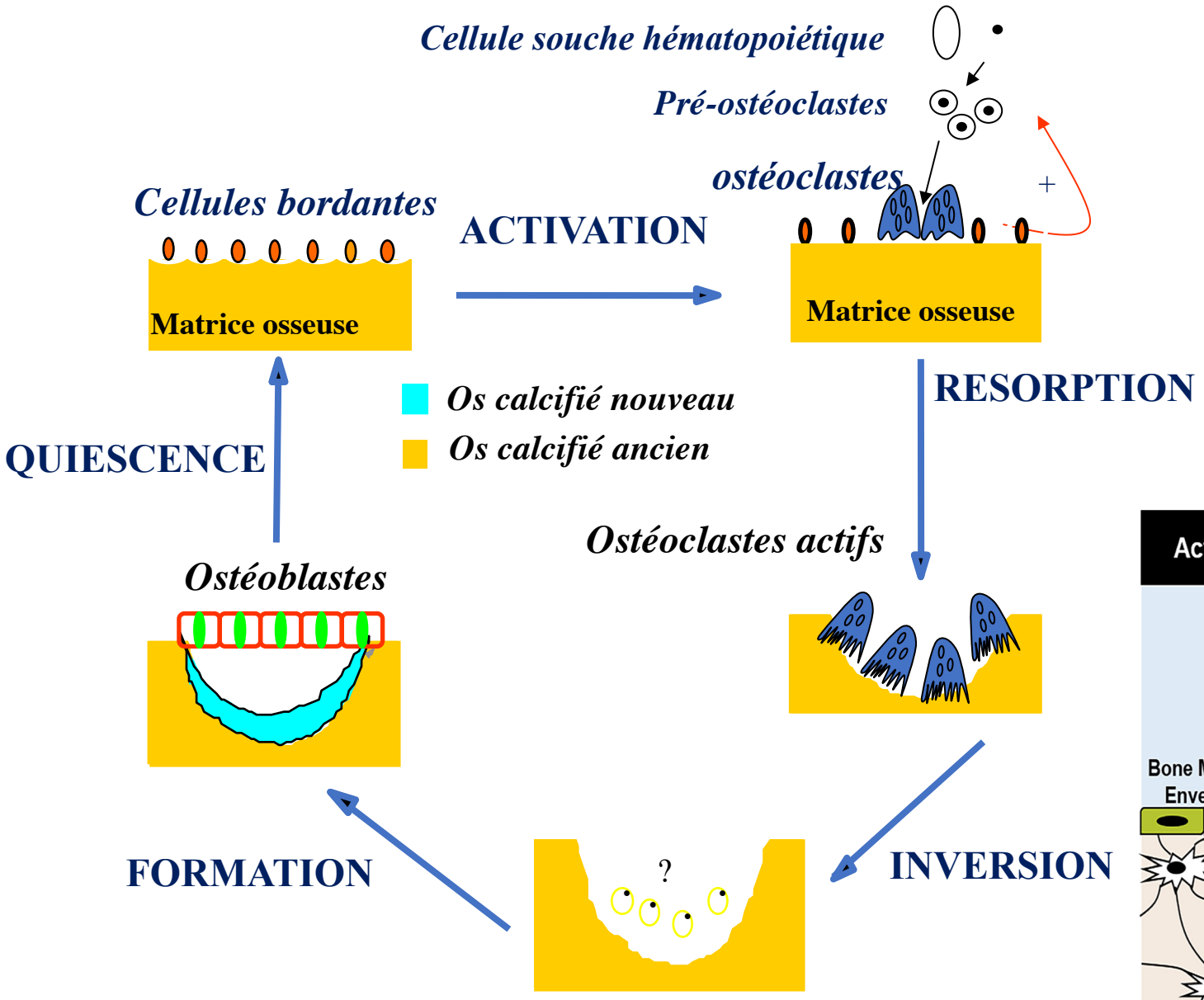
- Il y a la notion d'une unité multicellulaire de base (BMU) en tant que structure anatomique transitoire dans le remodelage osseux
- Le BMU comprend notamment un ensemble d'ostéoclastes localisés dans le « cône de coupe » suivi d'un ensemble de cellules, comprenant des cellules d'inversion et des ostéoblastes, localisées au niveau de la zone d'inversion; et un ensemble d'ostéocytes localisés dans la zone de fermeture. Ces ensembles cellulaires constituent un ostéon secondaire autour du faisceau neurovasculaire qui est situé axialement avec la matrice conjonctive dans le canal de Havers.

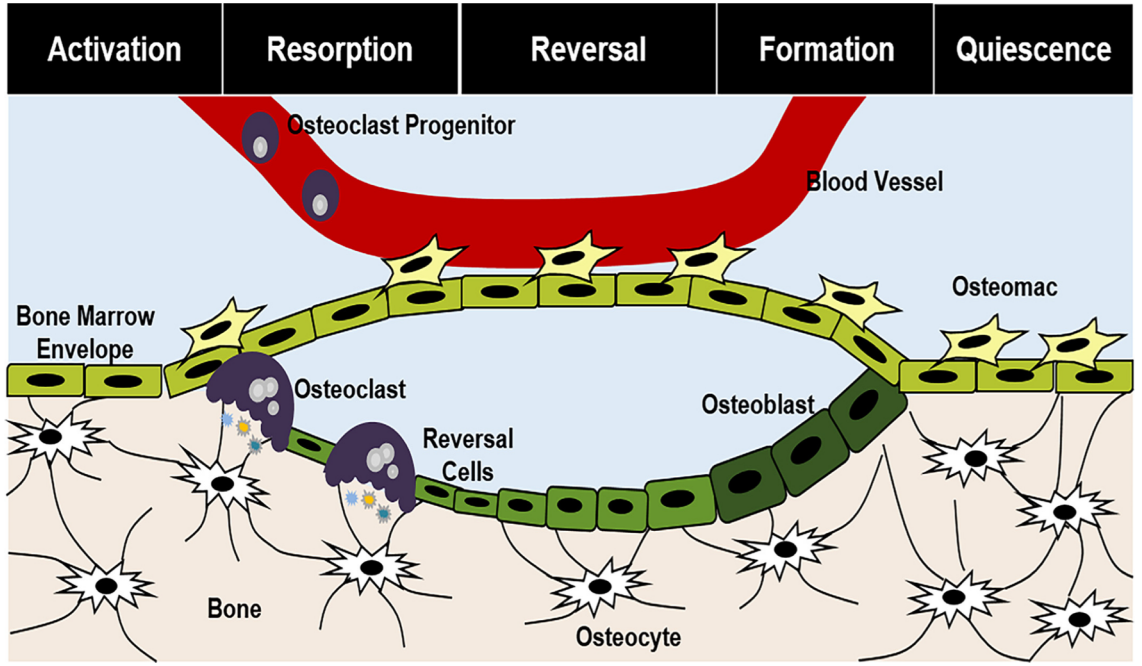
Les différentes phases du cycle du remodelage

- Le remodelage osseux est un processus par lequel les vieux os sont résorbés et remplacés par de nouveaux pour prévenir l'accumulation de dommages. Il se déroule en différentes phases, l'ensemble dure 120 à 200 j.
- **1. Phase d'activation**
  - A la surface de la matrice osseuse, recrutement des précurseurs mononucléés des ostéoclastes.
- **2. Phase de résorption** ***(durée d'environ deux semaines)***
  - Adhérence des ostéoclastes qui creusent un trou = les lacules de Howship
  - Relarguage des ions H+
  - Digestion de la matrice collagénique (cathepsine K et les métalloprotéases).
- **3. Phase d'inversion** (***durée d'environ quatre à cinq semaines)***
  - Remplacement des ostéoclastes par des cellules mononucléées type macrophages.
  - La disparition des ostéoclastes = signal reformation osseuse.
- **4. Phase de reconstruction (néo formation osseuse)** (***durée d'environ quatre mois***)
  - Recrutement des ostéoblastes dans la lacune, qu'ils comblent en apposant une nouvelle matrice organique, qui sera ensuite minéralisée.
  - Un cycle de remodelage dure environ 4 mois chez l'adulte, la phase de formation étant la plus longue.
- **5. Phase de quiescence ou de repos**
  - La quiescence est une phase de repos.



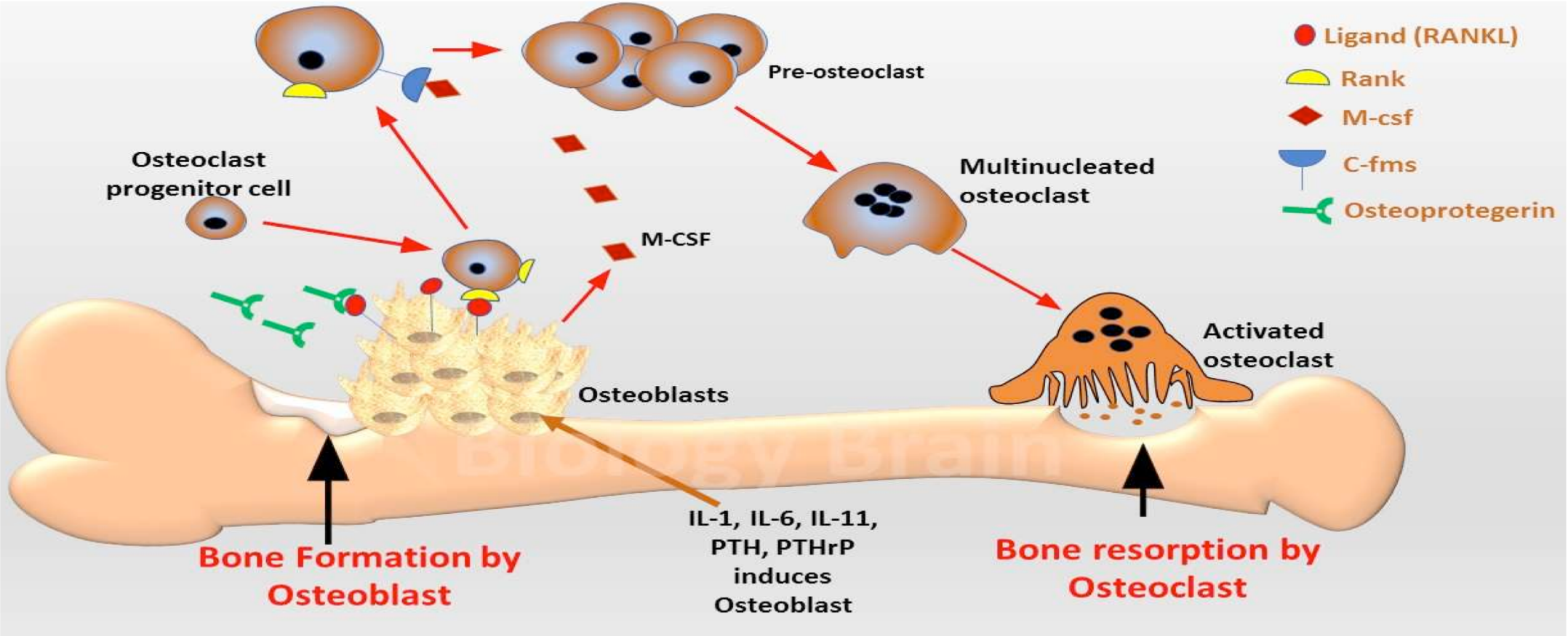
Les différentes phases du remodelage osseux





Résorption/formation

- Chez les individus en bonne santé, la formation osseuse correspond à la destruction osseuse et il n'y a pas de perte de masse osseuse totale.
- En cas de maladie osseuse métabolique, l'équilibre entre la résorption et la formation osseuse est altéré ; la résorption osseuse et/ou la formation osseuse augmentent ou diminuent).



Contrôle et facteurs de régulation du remodelage osseux

- Le renouvellement du tissu osseux est soumis à l'influence de facteurs exogènes et endogènes.
- Les plus importants sont les facteurs hormonaux et locaux.

Régulation hormonale du remodelage osseux

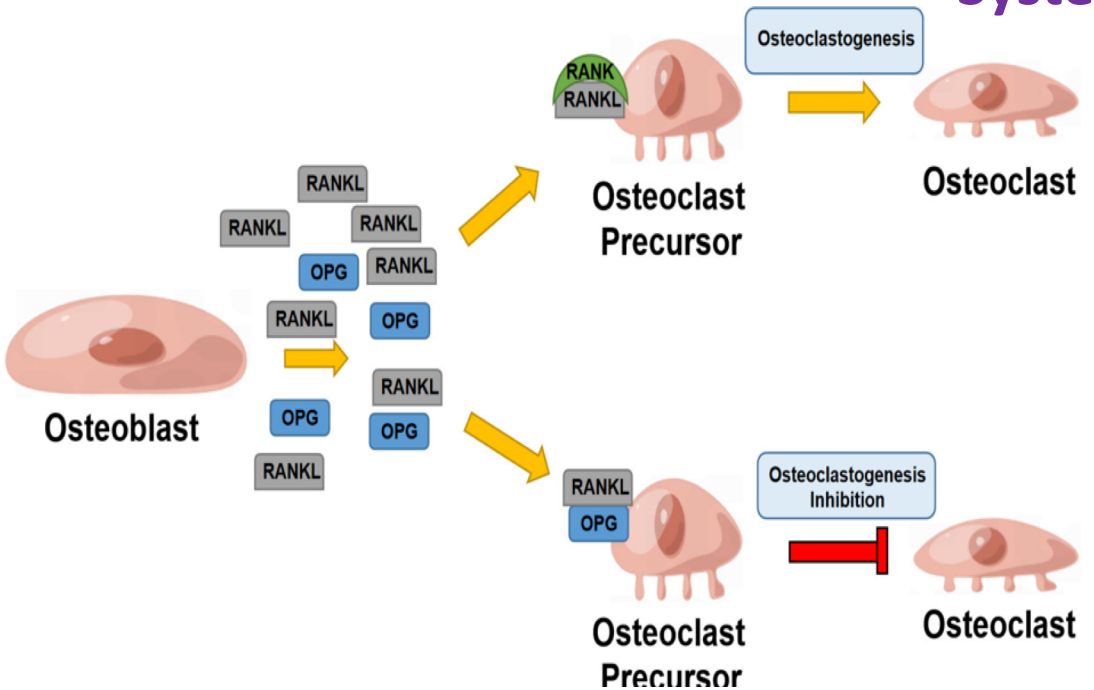
- Plusieurs hormones sont impliquées dans la régulation du métabolisme osseux.
- Les ostéoblastes sont stimulés par l'hormone parathyroïdienne et la vitamine D, mais sont inhibés par les corticostéroïdes.
- Alors que l'hormone parathyroïdienne et la vitamine D stimulent également les ostéoclastes, la calcitonine et les œstrogènes inhibent les activités des ostéoclastes.

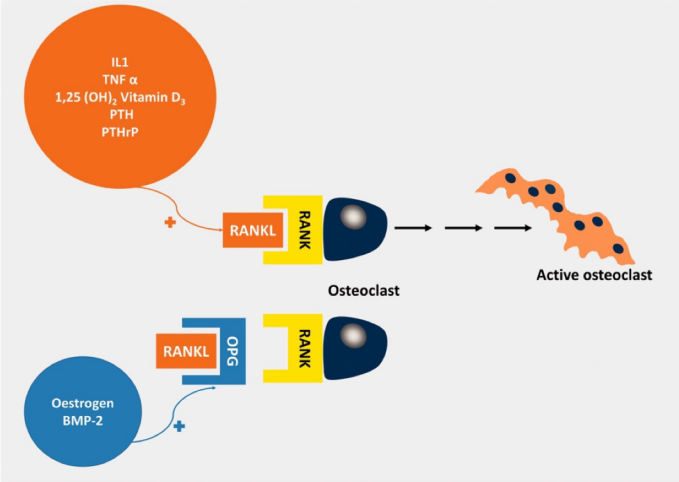
Les principales hormones qui affectent le métabolisme osseux

Hormones	Effets hormonaux
Hormone parathyroïdienne	Provoque la résorption du tissu osseux. • Fournit la libération de calcium et de phosphore • Limite la synthèse de collagène dans les ostéoblastes • Stimule la résorption osseuse et Provoque la solubilité dans les ostéoclastes • Permet la transformation précoce des cellules en ostéoclastes et ostéoblastes • Réduit la capacité de liaison du calcium de l'os
Vit D3	Assure une minéralisation optimale des os lors de la croissance
Calcitonine	Inhibe la résorption osseuse en inhibant les ostéoclastes.
Hormones sexuelles	Œstrogènes: Inhibition de la résorption induite par les ostéoclastes et stimulation de la synthèse via les ostéoblastes. Testostérone: mêmes effets.
Hormone de croissance	Stimule la formation osseuse (via la stimulation de la production d'IGF1).
Hormones thyroïdiennes	Stimulent à la fois la formation osseuse et la résorption .
Les stéroïdes	Stimulent directement la destruction osseuse.
Prolactine	Accélère la perte osseuse.

Régulation locale du remodelage osseux

Système RANKL/RANK/OPG

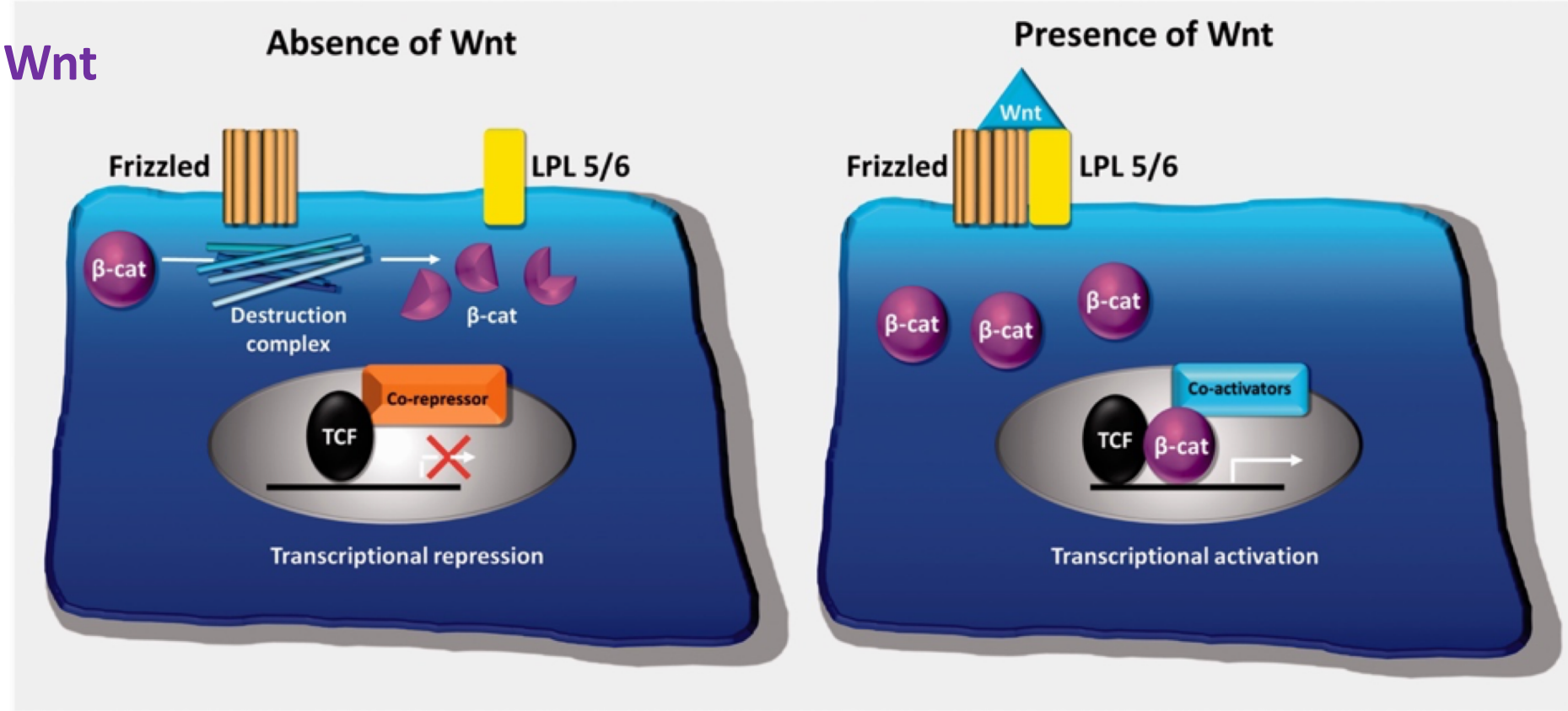




- Résorption et formation osseuses sont déterminées par des molécules qui affectent l'activité des ostéoblastes ou des ostéoclastes.
- Les ostéoblastes régulent la résorption osseuse grâce à l'expression du ligand activateur du récepteur du facteur nucléaire kappa-B (RANKL), ainsi qu'à une bonne formation.
- RANKL est un ligand du récepteur de l'activateur du récepteur RANK situé sur les ostéoclastes. Il est responsable de la stimulation de la résorption via la formation et l'activation des ostéoclastes.
- Les ostéoblastes forment également l'ostéoprotégérine (OPG), un récepteur soluble leurre pour RANKL. Ceci empêche l'interaction de RANKL avec son récepteur RANK. ce qui bloque la résorption osseuse en inhibant la différenciation et la prolifération des ostéoclastes.

Régulation locale du remodelage osseux

Signalisation Wnt



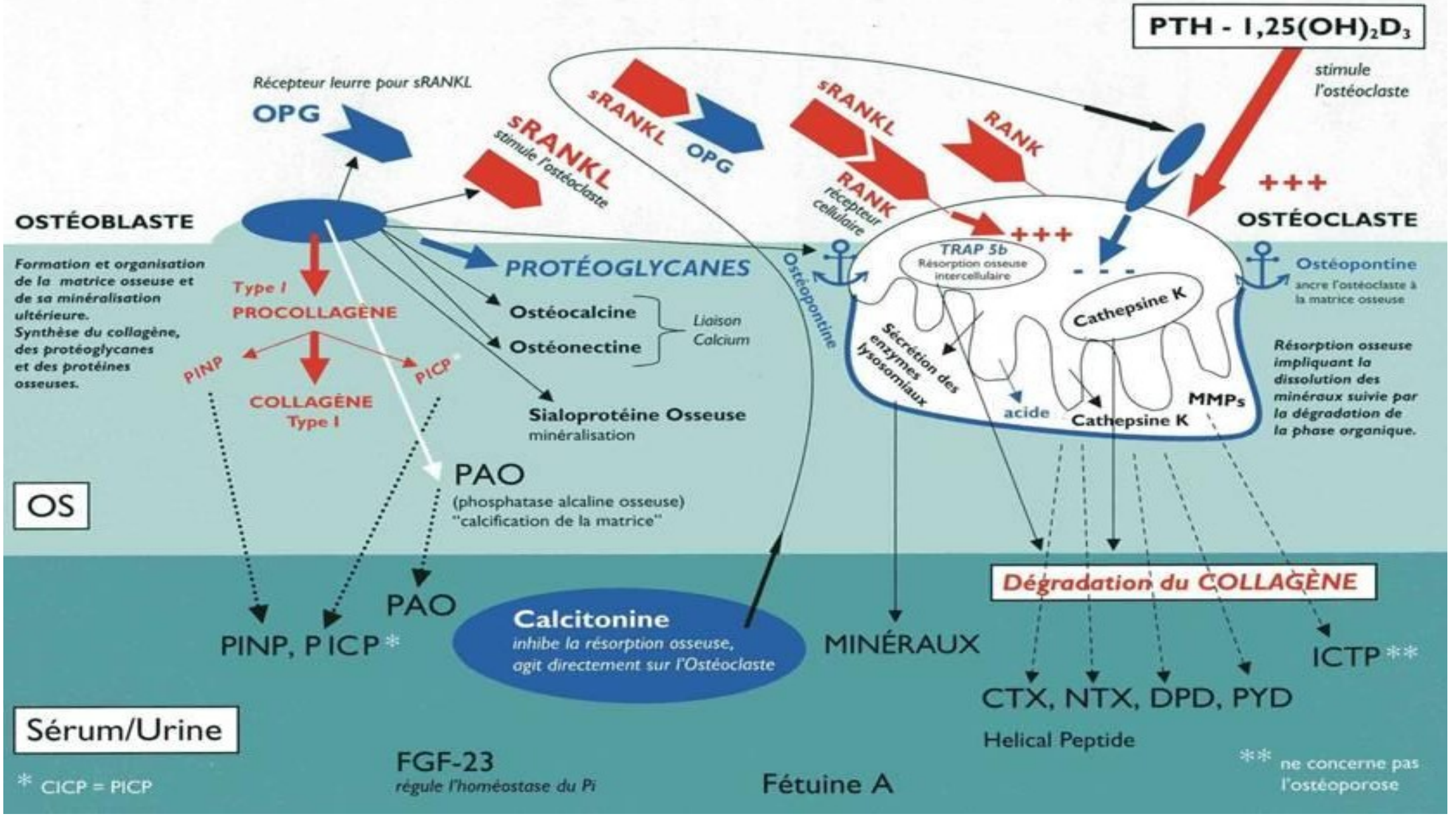
- En l'absence de Wnt, Frizzled et ses corécepteurs LPL5/6 n'interagissent pas. Le complexe de destruction, présent dans le cytoplasme, dégrade la β-caténine et l'expression du gène cible est réprimée.
- En présence de Wnt, Frizzled se lie à ses corécepteurs et bloque l'action du complexe de destruction. La β-caténine s'accumule dans le cytoplasme, se transloque vers le noyau en déplaçant les corépresseurs transcriptionnels et en recrutant des coactivateurs conduisant à une expression accrue des gènes cibles clés impliqués dans la différenciation des ostéoblastes.

Régulation locale du remodelage osseux

Autres facteurs

- **1. Les protéines morphogénétiques osseuses (BMP)**
  - Ce sont des protéines qui induisent la formation du cartillage et d'os, ex : BMP2/4/6/7/9.
- **2. Facteur de croissance transformant bêta (TGF-β)**
  - Le TGF-β est l'un des facteurs de croissance le plus abondamment stocké dans la matrice osseuse. Il est secrété par les ostéoblastes.
- **3. Facteurs de croissance analogues à l'insuline (IGF)**
  - Les IGF jouent un rôle important dans la formation du tissu osseux.
- **4. Prostaglandines**
  - Produits localement par les ostéoblastes.
  - In vivo, la PGE2 principale prostaglandine synthétisée par les ostéoblastes stimule l'activité de résorption.
- 5. **Interleukines**
  - L'IL1 stimule la résorption
  - L'IL-6 active la résorption et stimule l'activité ostéoclastique.
  - L'IL-11 stimulation l'ostéoblastogenèse et la formation osseuse.
  - L'IL-4, L'IL-10, et L'IL-13 inhibent la résorption inhibée.

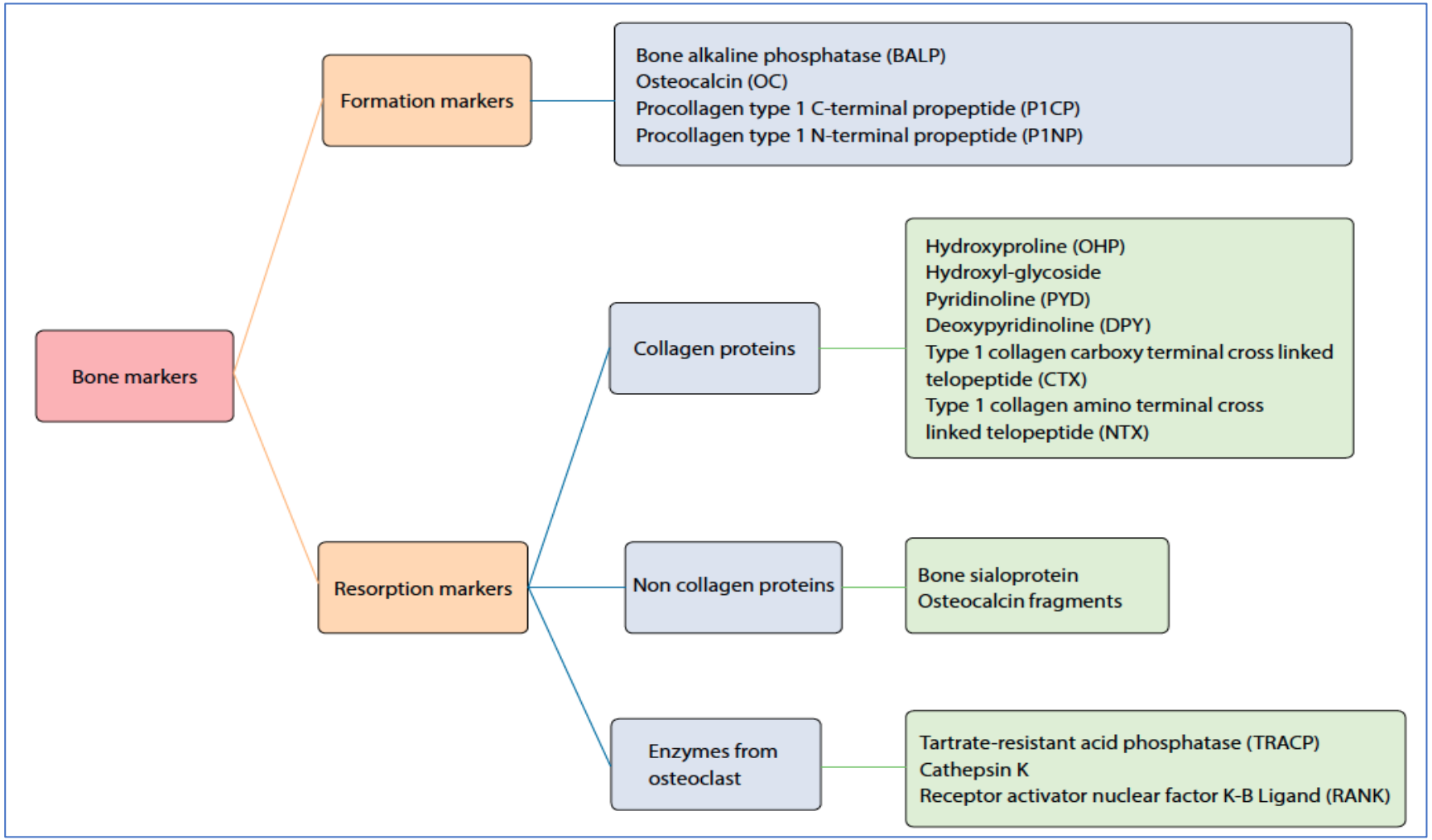
Vue d'ensemble de la régulation du remodelage osseux



Les marqueurs du remodelage osseux

Marqueurs de remodelage osseux

- L'état métabolique de l'os peut être évalué à l'aide d'un groupe de molécules appelées marqueurs du renouvellement osseux (BTM: bone turnover markers).
- Les marqueurs du remodelage osseux sont divisés en 2 groupes, marqueurs de formation et de résorption

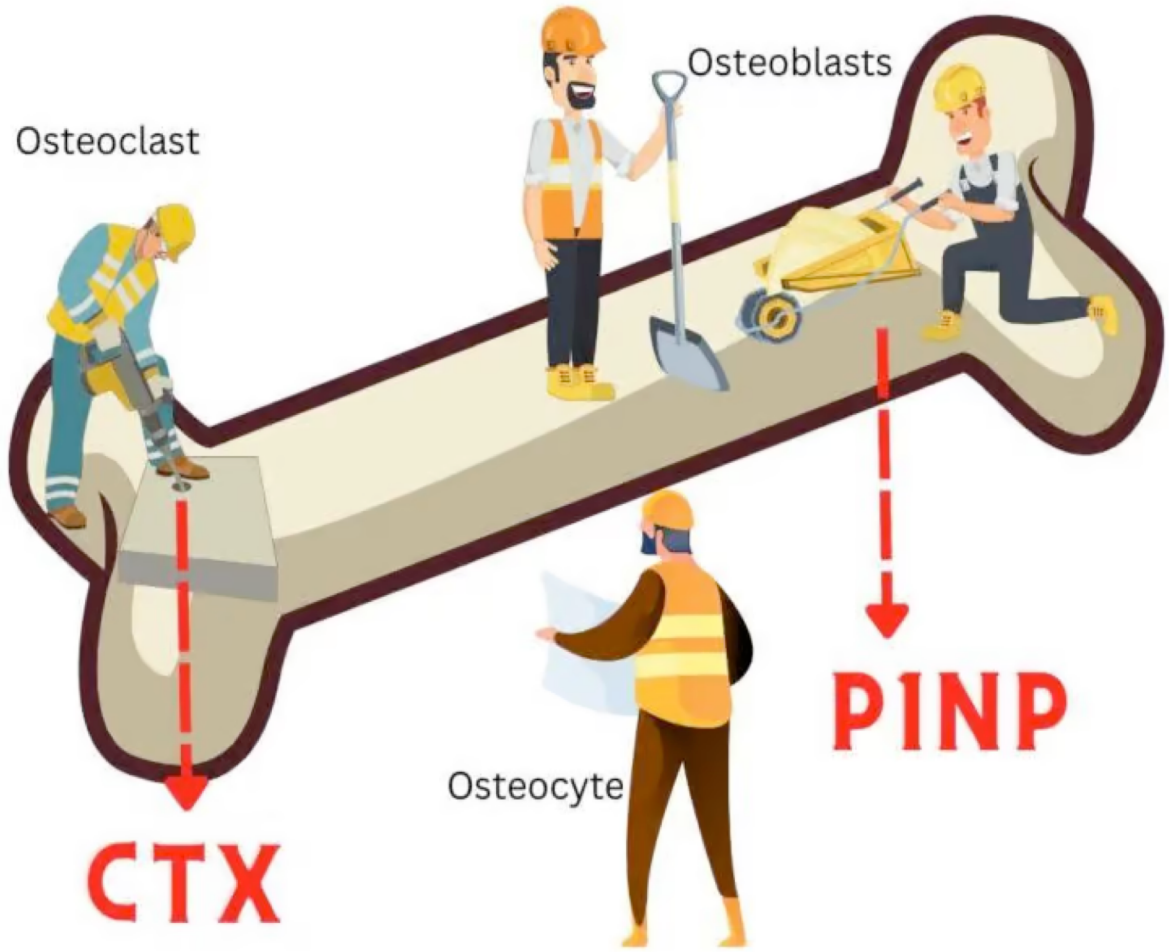


Généralités

- Les marqueurs du remodelage osseux peuvent être mesurés dans le sérum ou l'urine dans le diagnostic et le suivi des maladies osseuses primaires ou secondaires.
- Les marqueurs du remodelage osseux sont utiles pour
  - Surveiller le métabolisme osseux chez les patients atteints d'IRC comme ALPs, P1NP, TRAP5a et FGF23 (biomarqueurs de suivi de l'IRC).
  - Le diagnostic et le suivi de la maladie de Paget (certains comme l'ALPs et le P1PN sont recommandés) .
  - La prise en charge de l'ostéoporose primaire comme l'ALPs, P1NP et CTX sont utiles .
  - Le suivi et le diagnostic de l'ostéomalacie comme l'ALP osseuse.
- Il existe différentes méthodes de dosage pour le même paramètres. Pour des mesures en série il est important d'effectuer le dosage dans le même laboratoire et en utilisant la même méthode. La concentration de marqueurs du remodelage osseux dans l'urine doit être exprimée sous la forme d'un rapport de la concentration de créatinine urinaire.
- La majorité des marqueurs sont spécifiques à la formation et à la destruction du collagène.
- Des variables telles que l'âge, le sexe et la ménopause sont importantes à connaitre en raison de la nature dynamique de l'os et son remodelage tout au long de la vie.

Généralités

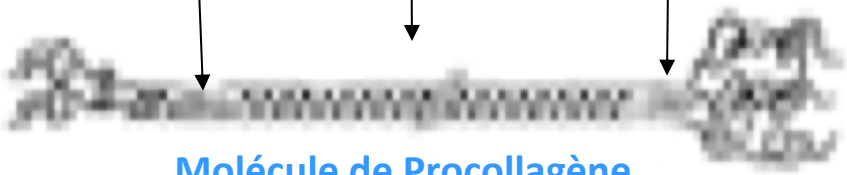
- Dégradation du collagène de type 1 et activation des ostéoclastes = marqueurs de résorption osseuse .
- Produits et molécules de procollagène de type 1 exprimés à partir d'ostéoblastes activés = marqueurs de la formation osseuse.
- Dans les troubles osseux: métabolisme osseux est altéré
- L'une ou l'autre des classes de marqueurs identifiera les changements dans le renouvellement osseux.
- Les marqueurs du remodelage osseux sont dosés dans le sérum et/ou l'urine à l'aide de plusieurs méthodes, telles que l'électrophorèse, le radioimmunodosage, la chromatographie liquide à haute performance, le dosage immunoenzymatique et le dosage colorimétrique.



Synthèse / Dégradation du collagène

N protéase

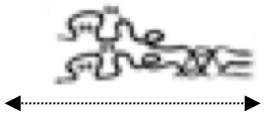
C protéase



Molécule de Procollagène

Synthèse du collagène

Clivage des propeptides



Propeptide N terminal (PINP)

Télopeptide N terminal

Molécule de collagène

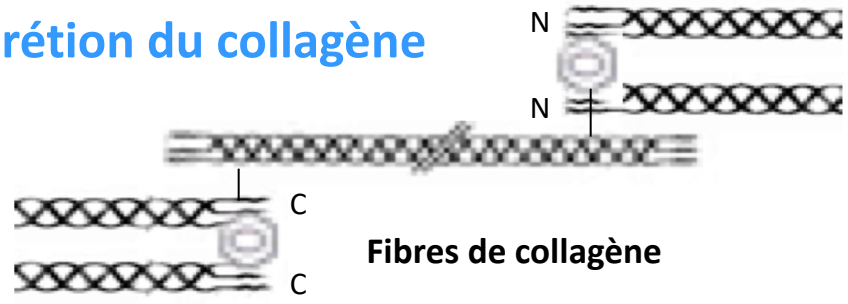
Télopeptide C terminal

Propeptide C terminal (PICP)

Pontage aux extrémités N et C terminales

Enzymes ostéoclastiques

Excrétion du collagène

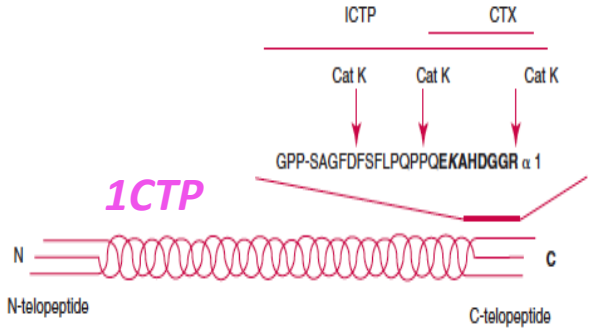


Fibres de collagène

Produits de dégradation du collagène

Formes libres (40%) : PYD-DPD

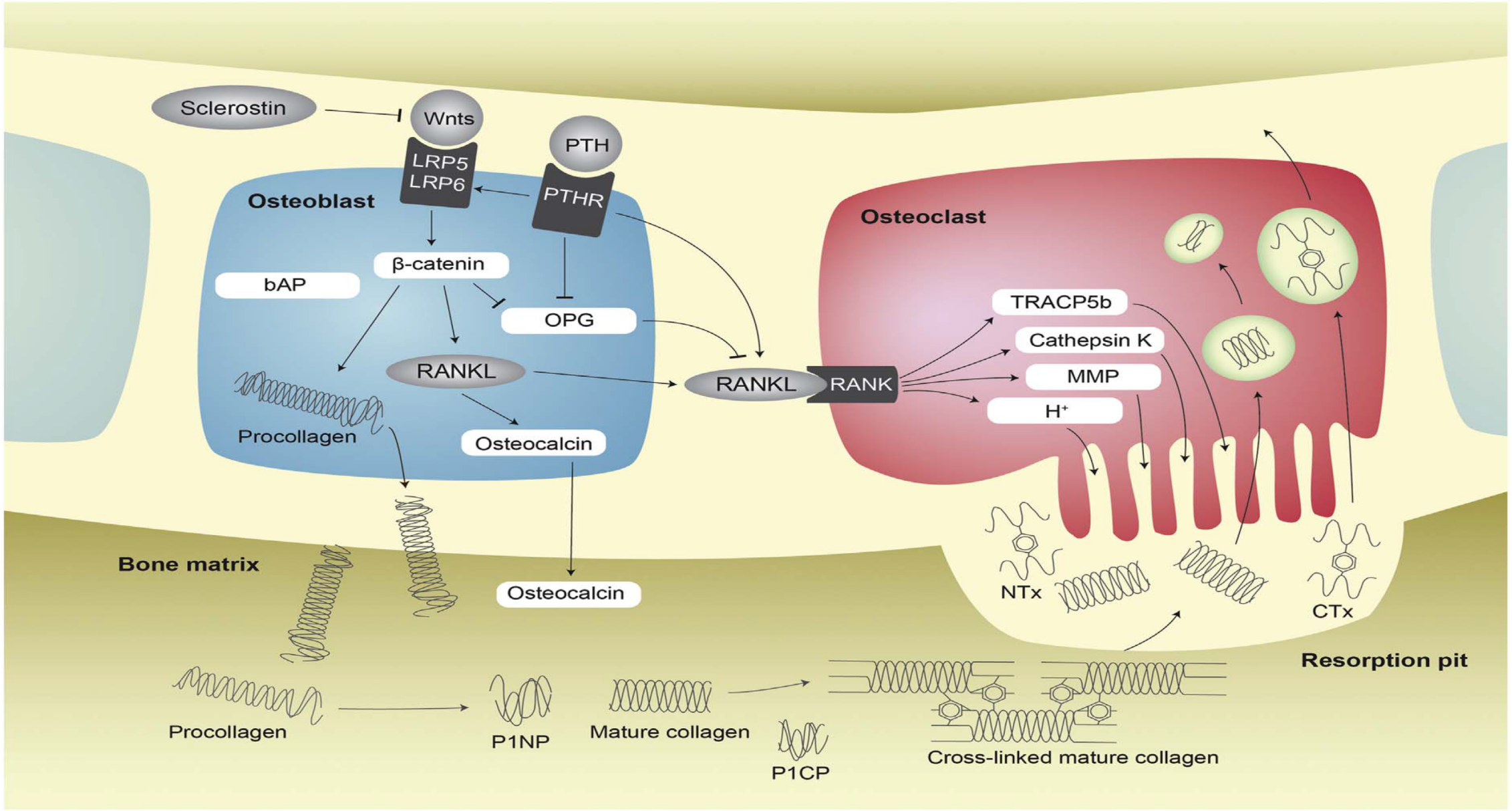
Formes liées (60%) : CTX-NTX



Synthèse / Dégradation du collagène

- Le collagène de type 1 est une protéine nécessaire à la minéralisation. Il forme une structure en triple hélice.
- Le **procollagène** est la formation de la première structure hélicoïdale lors de la synthèse du collagène.
- Les **peptides amino et carboxyle** présents aux deux extrémités de la molécule de procollagène sont éliminés de la structure par les protéases lors de la synthèse du collagène, ce qui entraîne la formation de **tropocollagène**.
- Le tropocollagène contient des portions à chaque extrémité qui ne présentent pas de structure en hélice : les portions non hélicoïdales aux deux extrémités du tropocollagène sont les régions N-telopeptide et C-telopeptide.
- Des réticulations se forment entre les chaînes latérales lysine et/ou hydroxylysine du tropocollagène.
- Cette réticulation est affectée par une enzyme dépendante du cuivre, la lysyl-oxydase. La réticulation a lieu entre la lysine et l'hydroxylysine dans les molécules de tropocollagène.
- Formation de réticulations de pyridinoline liées à des fragments des chaînes alpha-1 et alpha-2 du collagène,
- La majorité du collagène est complètement hydrolysée en ses petites unités, telles que la pyridinoline (PYD) et la désoxypyridinoline (DPY) qui sont des cross-linking ou liens croisés.
- La région de réticulation PYD dans la région N-télopeptide est le télopeptide amino-terminal (NTX).
- Le télopeptide carboxy-terminal (CTX) est un fragment isomérisé dans la région C-terminale.

Synthèse / Dégradation du collagène



Marqueurs sériques et urinaires du remodelage osseux et méthodes de dosage

Marqueur	Activité	Échantillon	Méthode(s)
Phosphatase alcaline osseuse spécifique	Formation	S, P	E, IRMA, EIA
Ostéocalcine	Formation	S	RIA, ELISA, IRMA, ECLIA
Propeptide C-terminal du procollagène de type : 1 P1CP	Formation	S	RIA, ELISA
Propeptide N-terminal du procollagène de type 1 : P1NP	Formation	S, P	RIA, ELISA
Hydroxyproline	Résorption	U	HPLC, C
Hydroxylysine-glycosides	Résorption	U(S)	HPLC, ELISA
Pyridinoline : PYD	Résorption	U, S	HPLC, ELISA
Déoxypyridinoline : DPD	Résorption	U, S	HPLC, ELISA
Collagène de type 1 télopeptide réticulé carboxy-terminal :CTX	Résorption	U, S	ELISA, RIA, ECLIA
Collagène de type 1 télopeptide amino-terminal réticulé : NTX	Résorption	U, S	ELISA, RIA, ICMA
Carboxyterminal telopeptide of type I collagen : 1CTP	Résorption	S	RIA
Sialoprotéine osseuse	Résorption	S	RIA, ELISA
Fragment d'ostéocalcine	Résorption	U	ELISA
Phosphatase acide tartrate-résistante : TRACR5b	Résorption	P, S	RIA, ELISA, C
Cathepsines	Résorption	P, S	ELISA

Marqueurs de la formation osseuse

- **Phosphatase alcaline osseuse ou spécifique des os ou Bone-specific alkaline phosphatase (BALP) :**
  - Enzyme a 4 isoformes, localisés dans l'os, le placenta, le foie et l'intestin.
  - Isoformes osseuses et hépatiques sont les plus fréquentes (>95 %).
  - Produit par les ostéoblastes.
- **Ostéocalcine (OC) :**
  - Peptide liant le calcium, se compose de 49 acides aminés.
  - Exprimé et sécrété par les ostéoblastes. La plupart des CO synthétisés pénètrent dans la matrice osseuse, mais une petite quantité est libérée dans le sang.
- **Propeptides du procollagène :**
  - Le procollagène est le précurseur du collagène de type 1. La molécule de procollagène a des extensions terminales amino et carboxyle.
  - Au cours de la synthèse, ces extensions sont éliminées par voie enzymatique de la molécule de procollagène et libérées dans le système circulatoire. Ce sont le propeptide C-terminal du procollagène de type 1 (P1CP) et le propeptide N-terminal du procollagène de type 1 (P1NP).

Marqueurs de résorption osseuse

- **PYD et DPY**
  - Ce sont des chaînes polypeptidiques de collagène réticulant qui assurent la stabilisation du collagène. Les liaisons croisées ou cross link formées lors de la maturation extracellulaire du collagène sont libérées dans le sang à la suite de la dégradation du collagène mature. PYD et DPY se trouvent dans l'urine sous forme libre et liée aux peptides.
- **ICTP ou Carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen**
  - C’est la partie télopeptide du fragment de collagène qui réside entre les 2 chaînes alpha-1 du collagéne.
- **Hydroxyproline (OHP):**
  - Dérivé de l'hydroxylation post-traductionnelle de la proline et entre dans la circulation lors de la destruction osseuse et de la dégradation du collagène.
- **Télopeptides des collagènes de type 1 (CTX, NTX) :**
  - NTX et CTX sont libérés lors de la dégradation du collagène
- **Phosphatase acide tartrate-résistante (TRACP) :**
  - Enzyme lysosomale. Possède 2 isoformes dans la circulation : TRACP5a trouvée dans les macrophages activés et TRACP5b dérivée des ostéoclastes.
- **Hydroxylysine-glycosides :**
  - Présente dans la structure du collagène, formée par modification post-traductionnelle lors de la synthèse du collagène par la lysyl hydroxylase. Un transfert de galactose vers ces dérivés d'hydroxylysine conduit à la galactosyl hydroxylysine (GHL). Lors de la dégradation du collagène, l'hydroxylysine et la GHL circulent et sont excrétés dans l'urine.

Autres protéines de la matrice osseuse

- **Ostéonectine :**
  - Glycoprotéines osseuses non collagènes fixant le calcium.
  - Assure le maintien de la masse osseuse et le remodelage normal.
- **Sialoprotéine osseuse (BSP) :**
  - Glycoprotéine de la matrice osseuse. Protéines non collagènes de l'os. Retrouvée uniquement dans les tissus minéraux et produite par les cellules osseuses.
  - Importante pour l'adhésion à la matrice cellulaire et rôle d'activation pour les ostéoclastes.
- **Cathepsine K :**
  - Enzyme de la famille des cystéine protéases. Majoritairement exprimée par les ostéoclastes actifs.
  - Marqueur de risque de fracture et de masse osseuse dû à la destruction des protéines matricielles de l'os.

Nouveaux marqueurs osseux

- **Périostine :**
  - Protéine exprimée par le tissu conjonctif riche en collagène, y compris l'os. Son rôle dans la synthèse du collagène est d'augmenter l'activation de la lysyl oxydase, qui permet la réticulation du collagène.
- **Système RANKL et OPG :**
  - RANKL, membre de la superfamille des récepteurs TNF est produit par les ostéoblastes. RANKL se lie au récepteur RANK et augmente la formation et l'activité des ostéoclastes. Les ostéoclastes expriment RANK.
  - L'OPG, membre de la superfamille du facteur de nécrose tumorale (TNF) inhibe la formation et l'activité des ostéoclastes.
- **Sclérostine :**
  - Glycoprotéine de 22 kDa produite par le gène SOST. Elle est exprimée dans les ostéocytes. C'est un antagoniste de la signalisation Wnt.
  - Réduit la formation osseuse. inhibe la prolifération et la différenciation des ostéoblastes et favorise leur apoptose

Nouveaux marqueurs osseux

- **Dickkopf-1 (Dkk-1) :**
  - La voie de signalisation Wingless joue un rôle important dans la différenciation et l'activité des ostéoblastes. Dkk 1 fait partie des protéines qui inhibent cette voie.
- **Sphingosine-1-phosphate (S1P) :**
  - Médiateur lipidique et possède plusieurs récepteurs couplés aux protéines G. Ce sont les récepteurs SP1R, SP1R1 et SP1R2. S1P affecte la prolifération, la survie et la migration des ostéoblastes, ainsi que la différenciation des ostéoclastes en augmentant RANKL dans les ostéoblastes. Il contrôle le trafic des précurseurs des ostéoclastes entre les cavités du sang et de la moelle osseuse.
- **Facteur de croissance des fibroblastes 23 (FGF23) :**
  - Synthétisé par les ostéocytes sous la forme d'une molécule de 251 acides aminés.
  - Agit localement dans l'os et affecte l'homéostasie du phosphate dans les reins.
- **MicroARN (MiARN) :**
  - Molécules d'ARN simple brin de 18 à 24 nucléotides, les MiARN jouent une fonction régulatrice dans plusieurs voies, notamment l'organogenèse, l'apoptose cellulaire, la prolifération et la différenciation. Ils peuvent être libres ou liés à des protéines. Les miARN circulants agissent comme des molécules de signalisation qui affectent les informations épigénétiques entre les cellules.

Conclusion

- Le remodelage osseux est un processus complexe, c’est comme un flux continu d'informations et d'événements connectés
- Le remodelage osseux est un processus physiologique consistant en des opérations continues avec des composants réactifs rapides, des facteurs et des événements locaux de coordination, agissant de concert dans le temps et dans l'espace.
- Les marqueurs du remodelage osseux reflètent les changements aigus du métabolisme osseux et affichent toute l'activité métabolique dans le système squelettique pendant un certain intervalle de temps.
- Les marqueurs du remodelage osseux sont utiles dans la prise en charge de certaines pathologies osseuses.